

Goagulation et fibrinolyse

Citation for published version (APA):

Soria, C., & Hemker, C. (1987). Goagulation et fibrinolyse: De la formation a la dissolution du caillot. In J. Caen (Ed.), *Le sang et les vaisseaux* (pp. 33-5). Hermann.

Document status and date:

Published: 01/01/1987

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

50: Le Sang et les Vaisseaux : Ed. J. Coen.
pp. 3-29 1984

Claudine Soria, Coen Hemker

CHAPITRE IB

Coagulation et fibrinolyse : de la formation à la dissolution du caillot

1. Introduction

Ce chapitre permettra de comprendre comment un caillot se forme et se dissout. La formation du caillot, c'est-à-dire la coagulation permet à une personne normale de ne pas mourir d'hémorragie après un traumatisme. Elle doit se restreindre aux alentours de la lésion pour ne pas gêner la circulation normale. Quand la brèche vasculaire est réparée, ce caillot se redissout pour que la circulation, qui avait été transitoirement interrompue dans les vaisseaux lésés, reprenne : il s'agit de la fibrinolyse. Elle empêche chez un sujet normal l'occlusion permanente des vaisseaux lésés. La thrombose, c'est-à-dire l'occlusion de vaisseaux intacts, est empêchée par le fait que le caillot ne s'étend pas hors de la région de la plaie et par le fait que la fibrinolyse réouvre les vaisseaux après guérison.

On comprend ainsi que la formation et la destruction du caillot sont essentiels pour la survie. Comme dans tous les systèmes de physiologie, c'est un système très précisément contrôlé : une régulation apparaît à toutes les étapes de la coagulation et de la fibrinolyse, ce qui peut paraître assez compliqué mais en fait est très logique. Il faut s'émerveiller de la fabuleuse ingéniosité du système sanguin qui, grâce à un équilibre harmonieux entre coagulation et fibrinolyse, reste fluide dans la circulation mais est capable de coaguler au contact de la plaie sans extension du caillot dans la partie saine des vaisseaux.

Comme tous les équilibres dont dépend la vie, la nature a pris soin d'avoir plusieurs systèmes de contrôle, à la fois positifs et négatifs. Si

le système se dérègle, des troubles vont se manifester. Les hémorragies peuvent être aussi bien liées à une anomalie de la formation du caillot, qu'à sa destruction trop rapide. Les thromboses ou occlusions veineuses peuvent également relever soit d'une extension trop importante du caillot dans le système vasculaire du fait d'une anomalie de la régulation de la coagulation, soit d'un défaut de la fibrinolyse.

Nous discuterons d'abord de la formation du caillot de fibrine et, dans un deuxième temps, de sa destruction.

2. Historique

Depuis l'antiquité, la coagulation du sang a retenu l'attention puisque l'on note dans le Talmud de Babylone que la circoncision obligatoire chez les nouveaux-nés devait être interdite si le premier-né était décédé de maladie hémorragique. Ces législateurs avaient déjà sans le savoir reconnu l'hémophilie.

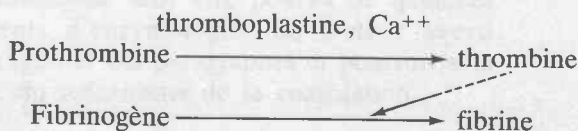
Cette maladie, pendant longtemps intraitable et terrifiante, toucha d'ailleurs des familles régnantes en Europe. Un arbre généalogique montre que la Reine Victoria était porteuse de la tare et que son fils et certains de ses petits fils en souffraient. Du fait de la gravité des symptômes, l'insécurité de survie et le caractère chronique de la maladie, le contexte psychologique familial était parfois profondément perturbé. Un exemple significatif peut être trouvé dans l'influence considérable prise par Raspoutine au sein de la famille impériale russe.

Au XIX^e siècle, plusieurs chercheurs se sont intéressés au mécanisme même de la formation du caillot. Rares étaient les expériences qui permettent d'en tirer des conclusions valables encore admises à l'heure actuelle. Toutefois, peut-on citer à la fin du XIX^e siècle quelques chercheurs comme Arthus et Pagès qui démontrèrent l'importance de l'ion calcium pour la coagulation du sang, l'italien Bizzozero et le français Hayem qui reconnurent l'importance des plaquettes sanguines, le suédois Westergren qui définit la nature de la substance coagulante (le fibrinogène) et enfin le hollandais Pekelharing qui, en 1893, démontra la génération de la thrombine à partir de la prothrombine. Nous ne mentionnerons que pour les citer Alexander Schmidt et Buchanan dont les recherches intéressantes permirent des conclusions qui paraissaient logiques à l'époque, mais qui à présent ne peuvent être soutenues.

Ce bref regard sur l'histoire de la coagulation jusqu'aux environs de 1900 permet de constater que les chercheurs d'alors entrevoyaient les connaissances d'aujourd'hui sans parvenir à en faire une synthèse. Ce n'est qu'en 1904 que l'allemand Von Morawitz, dans une revue générale de la littérature, publie un schéma de la coagulation qui servira de modèle pendant plus d'un demi-siècle.

Ce schéma classique de la coagulation est, en principe, toujours valable, mais il ne suffit plus pour résumer nos connaissances actuelles. Il reconnaît d'abord que la solidification du sang est due à la transformation d'une protéine plasmatique soluble, le fibrinogène, en fibrine insoluble. Il s'agit là d'un phénomène chimique, comparable à la caséinification du lait plutôt qu'à la solidification d'une solution de gélatine. C'est un processus irréversible, causé par l'action de l'enzyme thrombine. L'enzyme thrombine n'apparaît dans le plasma que lorsque celui-ci sort des vaisseaux à la suite d'une lésion vasculaire. L'enzyme se forme à partir d'une protéine plasmatique sans activité coagulante directe : la prothrombine. La conversion de la prothrombine en thrombine se fait essentiellement quand le sang se trouve au contact des tissus lésés. C'est une substance provenant des tissus, un extrait tissulaire nommé thromboplastine, qui, à cette

époque, était considérée comme directement responsable de cette conversion. Ainsi obtient-on le schéma suivant :



Par la suite, dans la première moitié du XX^e siècle, on recueillit une grande quantité de données montrant que le schéma classique était insuffisant. En effet, les hémophilies par exemple, maladies héréditaires au cours desquelles le sang ne coagule pas, ne sont ni dues à un déficit en fibrinogène ni en prothrombine, ni en thromboplastine. A la fin des années quarante, en Norvège, Owren découvrit une nouvelle protéine plasmatique nécessaire à la coagulation. C'est alors qu'il commence à numérotiser les protéines (ou « facteurs ») impliquées dans la coagulation :

- Facteur I : Fibrinogène,
- Facteur II : Prothrombine,
- Facteur III : Thromboplastine,
- Facteur IV : Calcium,
- Facteur V : Facteur plasmatique d'Owren.

Dès lors, avec une rapidité surprenante, on découvre, dans les années cinquante, six autres protéines plasmatiques nécessaires à la coagulation, numérotées VII, VIII, IX, X, XI et XII (le facteur VI s'avère être une erreur historique). Dans l'hémophilie classique (dite « A »), c'est le facteur VIII qui fait défaut. On reconnaît également un autre facteur, le facteur IX : son absence est responsable d'une autre forme d'hémophilie (dite « B »).

C'est grâce à l'examen des malades qui présentaient une coagulation considérablement ralentie par rapport à celle des sujets normaux que la description des principaux facteurs de coagulation a été faite. En effet, si, chez un de ces malades, on trouvait un taux normal de tous les facteurs connus, un déficit en un autre facteur encore inconnu pouvait être soupçonné. Des recherches ultérieures permettaient alors de préciser la nature de ce facteur. D'ailleurs, pendant longtemps, ce facteur ainsi découvert prenait le

nom du malade chez qui on avait découvert le déficit pour la première fois.

Ainsi, en 1962, on connaissait toute une panoplie de facteurs contenus dans le plasma, indispensables pour que le sang coagule normalement. On ne savait cependant pas encore comment ces protéines interagissaient pour arriver à la formation de la thrombine. Une chose était néanmoins certaine : il ne s'agissait pas d'une action directe de la thromboplastine tissulaire, comme dans le schéma traditionnel. Ce sont Macfarlane en Angleterre, Davie et Ratnoff aux Etats-Unis qui, en 1963, ont émis la première hypothèse sur le mécanisme d'interaction de tous ces facteurs. Cette hypothèse n'était que partiellement correcte.

Les connaissances concernant la fibrinolyse sont beaucoup plus récentes. Les premières observations mettant en évidence la liquéfaction du sang coagulé datent des XVIII^e et XIX^e siècles. Il avait été remarqué que le caillot sanguin n'avait pas tendance à se dissoudre, alors qu'au contraire une dissolution très rapide des caillots était notée après la mort. A la fin du XIX^e siècle, on découvrait « l'hémorragie septique », où les malades opérés mouraient d'hémorragie irréparable. Astrup au Danemark fut le premier, en 1947, à démontrer le rôle fondamental des tissus dans la dégradation du caillot. Tous ces phénomènes sont restés longtemps incompris et il a fallu attendre les années 1960 pour que ces symptômes puissent être expliqués et pour que les malades puissent être traités correctement. Mais les véritables progrès dans la compréhension du mécanisme de la fibrinolyse comme celle de la coagulation ne datent que de ces toutes dernières années. Ces changements ne sont pas fortuits : ils découlent des progrès de l'enzymologie et de la biologie moléculaire. Les derniers travaux consacrés à la fibrinolyse comme à la coagulation ont permis de mieux comprendre le mécanisme de certaines maladies hémorragiques et surtout des maladies thrombosantes, c'est-à-dire l'occlusion pathologique des vaisseaux.

Cette biologie nouvelle change tout, puisqu'elle débouche également sur des perspectives thérapeutiques et on est en droit d'espérer que, grâce aux progrès de la biotechnologie réalisés ces dernières années, la maladie thrombotique est sur la voie d'être vaincue.

3. Notions enzymologiques

Parce que la coagulation du sang est un processus enzymatique, il est impossible de faire sa connaissance sans être pourvu de quelques rudiments d'enzymologie. Le lecteur averti pourra ignorer ces paragraphes et poursuivre la lecture du mécanisme de la coagulation.

3.1. Une protéine

Une protéine et un polymère.

Les 24 acides aminés rencontrés généralement dans les protéines sont, dans chaque protéine, rangés dans un ordre défini dont la séquence est déterminée par le matériel génétique. La raison de cette séquence n'est pas évidente au premier regard. De chaque acide aminé, six atomes (toujours les mêmes) sont utilisés pour former la « colonne vertébrale » du polymère protéique. Les autres atomes servent à former des résidus qui « ornent » le fil central. L'interaction entre les résidus (différents selon les acides aminés) des acides aminés détermine la configuration tri-dimensionnelle de la chaîne. Ainsi, les résidus hydrophiles sont à l'extérieur, ce qui leur permet d'interagir avec l'eau.

Une protéine comme on en rencontre dans le plasma est donc généralement une petite pelote, formée d'un « collier » d'acides aminés (150-1500 et plus) qui, à sa surface, présente une configuration de groupes chargés positivement ou négativement très précisément répartis.

3.2. Une enzyme

Une enzyme est une protéine qui, à sa surface, possède une configuration d'acides aminés appelée site actif qui la rend capable de catalyser une réaction très spécifique.

Nous passerons rapidement sur la notion de catalyse en rappelant qu'il s'agit ici d'un processus par lequel une molécule, le catalyseur, facilite la réaction entre deux autres molécules, les substrats, sans modification du catalyseur. En coagulation, à l'exception de la stabilisation de la fibrine, il ne s'agit que d'une seule espèce de réaction chimique, la protéolyse, c'est-à-dire que nous ne nous intéressons ici qu'à une seule

catégorie d'enzymes, les enzymes protéolytiques. Ces enzymes sont capables de couper le « collier » qui forme la colonne vertébrale d'une protéine. Ainsi, une protéine qui comporte une chaîne de 600 acides aminés peut être scindée en deux parties de 450 et de 150 acides aminés et ainsi de suite. Cette réaction se produit parce qu'un endroit très spécifique, le site actif de l'enzyme, se lie à un site vulnérable de la protéine qui sert de substrat. Ce site n'est pas un site quelconque, mais comporte des acides aminés spécifiques dans une juxtaposition très spéciale. Ainsi, les enzymes de la coagulation contiennent tous une sérine et une histidine dans leur site actif et cherchent un site vulnérable auprès d'une arginine dans le substrat.

En résumé, deux protéines sont en présence, l'une est l'enzyme, l'autre est le substrat. A la surface de l'enzyme se trouve un site actif, en quelque sorte des « ciseaux biochimiques », formé d'acides aminés dans une configuration très spécifique. Ces ciseaux cherchent, à la surface du substrat, un endroit vulnérable où ils peuvent le couper en deux. L'enzyme sort indemne de cette opération et peut attaquer à nouveau une autre molécule de substrat. Une molécule peut posséder plusieurs sites vulnérables et être ainsi coupée en autant de morceaux qu'il y a de sites vulnérables plus un. Une notion essentielle doit être envisagée : le changement de structure tridimensionnelle de la protéine à la suite de la protéolyse. On se rappelle que la composition du « collier » d'acides aminés détermine la façon dont il forme une pelote. Dans le système de coagulation, quand le fil est coupé, il en ressort deux pelotes dont les éléments n'auront plus les configurations spatiales d'origine. Ainsi, des résidus sérine et histidine dans le substrat peuvent se trouver rapprochés par ce changement de conformation de telle façon que le substrat lui-même, après coupure de la protéine devient enzyme protéolytique à son tour. Voilà précisément le processus clé de la coagulation sanguine : une molécule d'enzyme attaque une autre molécule qui, une fois scindée, devient enzyme à son tour pour attaquer une autre molécule, faisant ainsi encore une nouvelle enzyme. Les protéines inactives qui ne deviennent des enzymes qu'après coupure par une autre enzyme sont connues sous le nom de proen-

zymes. Une véritable « cascade enzymatique » constitue ainsi le processus de la coagulation.

Imaginons une enzyme dans un milieu qui contient aussi une certaine quantité de molécules de substrat. De temps en temps, l'enzyme entre en collision avec une molécule de substrat. Une partie de ces collisions se produit de telle sorte que le centre actif de l'enzyme rencontre un centre vulnérable du substrat avec juste l'énergie nécessaire pour qu'une réaction s'ensuive. Dans ce cas, les deux molécules restent liées pendant un certain temps, pour ensuite se dissocier en molécule d'enzyme, qui sort indemne de l'aventure, et de deux morceaux de substrat.

Quand la concentration de substrat est faible, l'enzyme ne rencontrera des molécules de substrat que de temps en temps. Ainsi, passe-t-elle la majeure partie de son temps en « vol libre ». Avec de fortes concentrations de substrat au contraire, l'enzyme rencontrera une nouvelle victime aussitôt après en avoir coupé une. Entre les deux concentrations se trouve une concentration où l'enzyme sera occupée pendant exactement la moitié de son temps, ou, s'il y a un grand nombre de molécules d'enzyme, où la moitié de ces molécules est liée à un substrat. La concentration de substrat correspondant à cette demi-saturation de l'enzyme s'appelle en terme technique la constante de Michaelis ou (K_m). Une enzyme très avide de son substrat réussira à couper presque toutes les molécules de substrat qu'elle rencontrera. Elle sera à demi saturée à de très petites concentrations de substrat (le K_m est alors petit).

Une enzyme sans grand « intérêt » pour son substrat entrera en collision avec beaucoup de ces molécules avant d'arriver à une collision qui sera productive, c'est-à-dire qui conduira à la scission du substrat. Il lui faudra une haute concentration pour être à demi saturée (le K_m est alors grand).

On peut s'imaginer qu'une molécule d'enzyme soit complètement saturée, c'est-à-dire que, immédiatement après qu'elle ait coupé une molécule de substrat, elle en rencontre directement une autre. Cette situation ne se produira jamais en réalité parce qu'elle ne peut se produire qu'à une concentration infinie de substrat. Pourtant, il est utile de s'imaginer cette situation parce qu'elle nous apprend que, même à une

concentration infinie de substrat, la vitesse de la réaction enzymatique ne sera pas infinie. Une molécule d'enzyme, même complètement saturée, ne pourra transformer qu'un nombre limité de molécules de substrat par minute. Cette quantité s'appelle le nombre de rotation (*turn-over number*) de l'enzyme et la vitesse de réaction maximale qui peut être obtenue avec des enzymes est dépendante de ce nombre. Il y a des enzymes qui peuvent scinder des milliards de molécules de substrat par minute, tandis que d'autres enzymes prennent plusieurs minutes pour couper une seule molécule de substrat. Les enzymologistes expriment cette capacité des enzymes par une autre constante, la constante catalytique (k_{cat}). k_{cat} peut être considérée comme le nombre de molécules de substrat qu'une molécule d'enzyme serait capable de couper si l'apport de matériel (c'est-à-dire la concentration ambiante du substrat) ne limitait pas son activité. Une enzyme efficace aura donc une petite constante de saturation (K_m) et une grande constante catalytique (k_{cat}).

3.3. Membranes

Toute cellule de notre corps est enveloppée d'une membrane. C'est une paroi extrêmement mince, qui sépare l'intérieur de la cellule de l'extérieur, de même qu'elle permet l'échange entre la cellule et son environnement. A l'intérieur de la cellule se trouvent plusieurs sortes de petites structures qui, elles aussi, sont enveloppées d'une membrane. Les phospholipides sont le matériel de base d'une membrane. Ces molécules sont constituées d'une partie hydrophobe et d'une partie hydrophile. En solution aqueuse, les parties hydrophobes, qui craignent l'eau, cherchent à se grouper de telle sorte qu'elles ne rentrent pas en contact avec la solution. Il en résulte la formation d'une double couche.

Il est utile de se rendre compte que les « queues » hydrophobes ainsi que les « têtes » hydrophiles des phospholipides peuvent être de composition très variées sans perdre leur caractère hydrophile ou hydrophobe. Les têtes peuvent être pourvues d'une charge positive, négative

ou neutre. Dans la double couche phospholipidique d'une biomembrane, on trouve des protéines qui peuvent être orientées à la surface extérieure ou intérieure ou qui peuvent traverser la membrane. A l'intérieur de la membrane, on rencontre des molécules de cholestérol. Des chaînes de glucide sont en général attachées aux protéines situées sur la surface externe de la cellule. Il est important de se rendre compte que la membrane est *asymétrique*. Les protéines à l'extérieur sont différentes de celles qui sont à l'intérieur. De même, les têtes hydrophiles des phospholipides tournés vers l'extérieur diffèrent de celles qui se trouvent à l'intérieur. Ainsi un phospholipide chargé négativement comme la phosphatidylsérine est presque uniquement orienté vers l'intérieur, fait d'une extrême importance pour la coagulation.

4. La formation du caillot de fibrine. La coagulation

Le terme de coagulation sanguine pour indiquer les processus plasmatiques d'hémostase peut être considéré comme assez mal approprié. Le fait que du sang mis dans un tube de laboratoire ou dans le seau du boucher se transforme en une masse gélatineuse n'est qu'indirectement lié au fait qu'une brèche vasculaire s'arrête de saigner ! Le point commun dans les deux processus est la formation de l'enzyme *thrombine* à partir de la *prothrombine*, une proenzyme contenue dans le plasma. La thrombine permet la formation du caillot en transformant le fibrinogène soluble en fibrine insoluble. Toutefois, dans l'organisme lésé, la thrombine a bien d'autres fonctions hémostatiques que la seule coagulation du plasma et son rôle dans la pathologie est encore plus compliqué. La génération et la disparition de la thrombine à l'occasion de la survenue d'une plaie ou d'une thrombose sont la contribution majeure du plasma sanguin à l'hémostase.

Le mécanisme de la génération de thrombine est complexe : c'est un exemple type de régulation biologique. Il est évident qu'à l'endroit d'une plaie, la génération de la thrombine

peut être retardée sans de graves risques hémorragiques. D'autre part, l'arrivée de quantités importantes de thrombine dans la circulation est très dangereuse : une injection intraveineuse de thrombine d'une certaine importance est léthale, comme l'expriment bien plusieurs espèces de serpents venimeux ! Il s'agit donc d'évoquer une explosion de thrombine strictement limitée à la région de la plaie. Les astuces de la nature pour arriver à ce but sont admirables.

La thrombinoformation se développe en quatre étapes. Dans une *phase initiale*, très peu de thrombine se forme et assez lentement. Cette thrombine sert à initier la *phase de rétroactivation* qui, comme son nom l'indique, entraîne une production de thrombine beaucoup plus importante, la *phase explosive*. Pour limiter la formation de thrombine, sa génération même induit une *phase d'inhibition*.

On ne peut que rester émerveillé en se rendant compte des subtilités d'un mécanisme où un seul produit, la thrombine, influence à la fois sa propre génération au niveau de la plaie et son inactivation dans la circulation afin d'éviter saignement d'abord et thrombose ensuite. Des petits dérèglements du système mènent vite à une pathologie importante. D'autre part, les thromboses et les hémorragies peuvent être guéries ou prévenues en manipulant le mécanisme de la thrombinoformation. En fait, la manipulation pharmacologique de la thrombinoformation s'est avérée, jusqu'à présent, comme étant la seule thérapeutique antithrombotique valable.

4.1. La phase initiale (fig. IB.1)

Une cellule blessée s'ouvre à l'extérieur et perd ses composants. La mort normale des cellules en général n'induit pas de thrombose parce qu'elle se produit de façon isolée, sans contact avec le plasma sanguin. Lors d'une plaie, même la plus petite, des milliers de cellules sont atteintes. En même temps, le sang fuit des vaisseaux et entre en contact avec le débris des cellules. Ainsi, une des proenzymes du plasma, le facteur VII, rencontre une lipoprotéine d'origine intracellulaire, la thromboplastine qui se trouve libérée dans le milieu plasmatique du fait de la

lésion cellulaire. La proenzyme facteur VII est une proenzyme très spéciale puisque, même non activée, elle peut présenter un rudiment d'activité. Cette proenzyme se lie à la thromboplastine. Par cette liaison, l'activité très faible de la proenzyme facteur VII se multiplie des milliers de fois. L'activité enzymatique du complexe facteur VII-thromboplastine reste cependant assez faible.

Le substrat naturel du complexe facteur VII-thromboplastine est encore une protéine plasmatique : le facteur X. Ce facteur est, lui aussi, une proenzyme qui, par ce complexe facteur VII-thromboplastine, est converti en enzyme active : le facteur X_a . Ce facteur X_a peut à son tour activer le facteur VII, qui vient de l'activer ! Cette activation aboutit à un facteur VII qui, fixé à la thromboplastine, est mille fois plus actif et continuera donc de produire des molécules de facteur X_a à toute allure. On assiste ainsi à une véritable boucle d'activation (fig. IB.1).

Dans ce processus, on rencontre ainsi deux espèces d'activation : la première concerne la conversion de proenzyme en enzyme. Ainsi, le facteur VII_a active le facteur X et le facteur X_a convertit le facteur VII en facteur VII_a ; la deuxième concerne une autre manière de rendre une enzyme procoagulante plus active : par adsorption sur des phospholipides. Ce mécanisme est très important pour les phénomènes de la coagulation. La thromboplastine, par exemple, est formée d'une protéine qui, en soi, n'a pas d'activité enzymatique. Elle est étroitement liée à un morceau de membrane, c'est-à-dire à des phospholipides. Le facteur VII s'adsorbe sur ces phospholipides à côté de la partie protéinique de la thromboplastine. Par cette adsorption même, le facteur VII acquiert une augmentation de son activité.

Mise à part la thrombine, chaque enzyme de la coagulation n'atteint sa pleine activité que dans un tel complexe, adsorbée à des phospholipides à côté d'un *facteur protéinique accessoire* qui, lui même, n'a pas d'activité mais qui augmente l'efficacité de l'enzyme.

Le facteur X_a , généré par l'action du complexe facteur VII_a -thromboplastine, retrouve, dans les débris des tissus lésés, les phospholipides procoagulants nécessaires pour augmenter ses capacités activatrices envers la

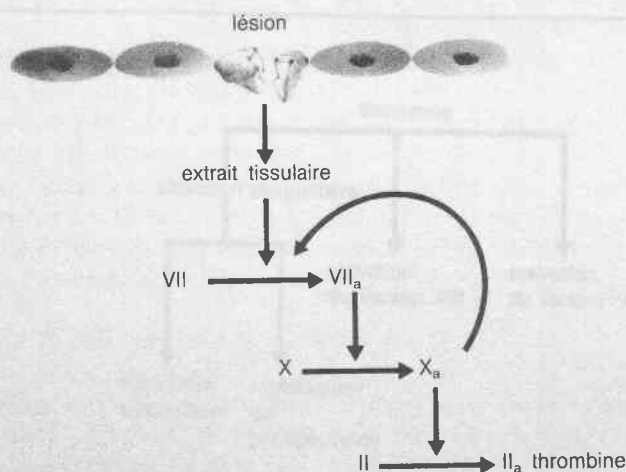


Figure IB.1
Etape initiale de la coagulation, lors d'une lésion.

prothrombine. Même sans son facteur accessoire (V_a , qui ne peut survenir qu'après l'apparition des premières molécules de thrombine), le facteur X_a , adsorbé aux phospholipides, peut activer la prothrombine et ainsi produire les premières molécules de thrombine.

4.2. La phase de rétroactivation

Les premières molécules de thrombine formées servent surtout à créer des conditions favorables pour la formation d'autres molécules de thrombine. Cela se fait simplement parce que la thrombine « apprête » les cofacteurs pour que ceux-ci exercent une activité enzymatique optimale pour la coagulation. On se rappelle que, pour exercer une activité optimale, une enzyme de coagulation a besoin de se lier à des phospholipides de charge négative en présence d'une protéine spécifique elle-même dépourvue d'activité enzymatique. Ainsi, le facteur X_a n'atteint son activité optimale qu'en présence du facteur V_a , comme lui adsorbé à une surface phospholipidique électronégative. Le facteur V_a résulte de l'action de la thrombine sur le facteur V, protéine qui se trouve dans le plasma. C'est pour cela que le produit de la phase initiale, la thrombine, déclenche la phase de rétroactivation

qui va aboutir à une phase de thrombinoformation explosive (fig. IB.2A).

Par son action sur les plaquettes sanguines, cette thrombine augmente aussi la quantité de phospholipides et de facteur V disponible. Les plaquettes, dont la structure détaillée sera traitée dans le chapitre IC, sont, comme toutes autres cellules, enveloppées d'une membrane dont seuls les phospholipides internes sont procoagulants. Les plaquettes sanguines sont pourtant des cellules spécifiquement vouées à servir à l'hémostase et c'est sans doute pourquoi ce sont les seules cellules connues à pouvoir rendre disponibles leurs phospholipides qui se trouvent à l'intérieur de la membrane vers l'extérieur sans que la cellule soit brisée par simple réarrangement de leur membrane. C'est comme si les lettres du verso de cette page s'interchangeaient avec celles que vous lisez maintenant. Ce phénomène, découvert par Zwaal et Bevers à Maastricht, ne peut être réalisé qu'avec des plaquettes qui sont, soit en contact avec le collagène, c'est-à-dire en général *dans* une plaie, soit activées par la thrombine. Ainsi, la thrombine augmente-t-elle la disponibilité des phospholipides procoagulants dans la plaie. De plus, la plaquette contient des vésicules chargées de protéines (dont le facteur V) qui libèrent leur contenu vers

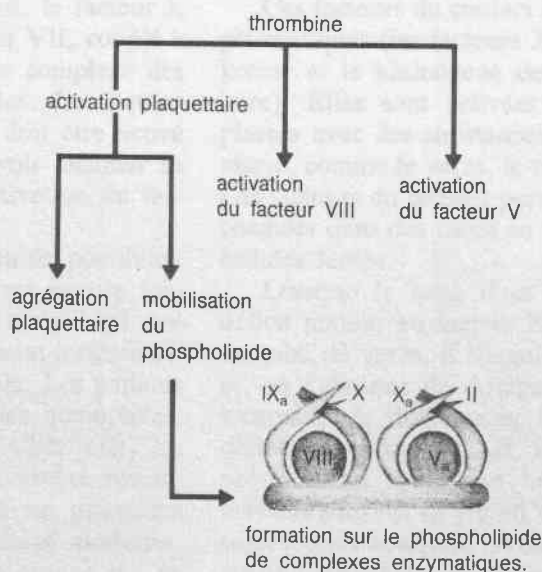


Figure IB.2A

Amplification du processus de la coagulation par la thrombine.

Le rôle de la thrombine dans la formation des complexes enzymatiques.

l'extérieur quand la plaquette est activée par la thrombine. Le facteur V est donc présent à haute concentration autour des plaquettes. Les plaquettes activées s'attachent entre elles et forment des agglomérats. Dans les interstices d'une telle masse, il y aura une abondance de phospholipides et du facteur V libéré de plaquettes activé par la thrombine. Ainsi toutes les conditions pour une plus grande formation de thrombine se trouvent réunies autour des plaquettes activées. De plus, le flux du sang ne pourra pas emporter et diluer la thrombine formée dans les interstices de l'amas de plaquettes. L'agglomérat de plaquettes activées se transforme ainsi en une véritable source de thrombine. Cette thrombine agira sur le fibrinogène, formant la fibrine qui cimentera l'agglomérat pour en faire un thrombus plaquettaire solide. La thrombine qui diffusera autour de l'agglomérat fera, selon les circonstances,

adhérer d'autres plaquettes et/ou coaguler le sang.

Une fois que les phospholipides procoagulants ainsi que le facteur V_a sont présents, la thrombinoformation peut s'établir très rapidement. Pour les cas où la quantité de thromboplastine libérée par la plaie serait trop faible, comme cela peut survenir lorsqu'une plaie est localisée au niveau d'un tissu pauvre en thromboplastine (articulations), la nature a prévu un mécanisme de remplacement.

4.3. La boucle Josso

Le complexe facteur VII_a -thromboplastine n'active pas seulement le facteur X mais aussi un autre facteur, d'ailleurs très similaire : le facteur IX. L'activité de ce facteur atteint un niveau significatif que lorsqu'il est adsorbé sur des phospholipides procoagulants et à côté de son

propre co-facteur, le facteur VIII_a. Le complexe des facteurs IX_a et VIII_a sur les phospholipides est tout à fait comparable à celui des facteurs X_a et V_a : le facteur qui est activé par le facteur IX_a est également le facteur X. Ainsi, le facteur X peut être activé soit par le facteur VII_a couplé à la thromboplastine ou soit par le complexe des facteurs IX_a-VIII_a-phospholipides. Le facteur VIII, tout comme le facteur V, doit être activé par la thrombine avant de pouvoir assumer sa fonction d'aide nécessaire à l'activation du facteur X.

A quoi peut servir cette double possibilité d'activation du facteur X ? On est encore loin d'une compréhension complète, mais il est évident que les facteurs IX et VIII sont indispensables pour une coagulation normale. Les patients qui manquent de ces facteurs, les hémophiles, ont une hémostase perturbée. Chez eux, les hémorragies importantes étaient encore récemment la cause de décès car ils ne pouvaient bénéficier d'un traitement substitutif moderne.

Imaginons une plaie dans un organe qui ne libère que très peu de thromboplastine ; par exemple une articulation. Dans ce cas, on peut concevoir que la production directe du facteur X_a par le complexe VII-thromboplastine sera très lente. Si lente même, que la production de thrombine restera toujours en dessous de la limite nécessaire pour vaincre les antithrombines toujours présentes (voir plus loin). Dans ce cas, l'hémostase ne se produira pas. Ce problème ne se pose pas dans des organes riches en thromboplastine, comme le cerveau ou les poumons. Par contre, dans les cas où l'activation directe du facteur X est trop lente, l'activation indirecte peut être utile. En activant le facteur IX, le facteur VII-thromboplastine forme, lentement, un grand potentiel d'activation du facteur X, grandissant avec le temps. Au début négligeable, il augmentera jusqu'à dépasser l'activation directe.

Ainsi existe-t-il toujours dans les « coulisses » un mécanisme de réserve qui permet d'assurer une bonne thrombinoformation là où, par manque de thromboplastine, l'activation directe du facteur X est trop faible. Cette boucle de renforcement, dont l'importance a été reconnue pour la première fois par François Josso, donne une explication du rôle des facteurs anti-

hémophiliques sans qu'interviennent les facteurs dits « du contact ». C'est sans doute une des raisons majeures de la fréquence des hémarthroses invalidantes de l'hémophile.

Ces facteurs du contact sont quatre protéines plasmatiques (les facteurs XII et XI, la prékallikréine et le kininogène de haut poids moléculaire). Elles sont activées lors du contact du plasma avec des substances étrangères à l'organisme, comme le verre, le silicate, le kaolin, etc. Les facteurs du contact permettent au plasma de coaguler dans des tubes en verre en l'absence de cellules lésées.

Lorsque le sang d'un sujet présentant un déficit majeur en facteur XII est introduit dans un tube de verre, il coagule de façon très lente et, en l'absence de dosages spécifiques, on est incapable de différencier l'hémophile du sujet déficitaire en facteur XII. Pourtant, l'hémophile présente un syndrome hémorragique majeur mettant souvent sa vie en danger, tandis que le sujet atteint de déficit en facteur XII ne présente aucune manifestation clinique et parfois même présente des cas d'occlusion vasculaire par formation de caillot.

On est donc en droit de se demander pourquoi, puisque la nature est si bien faite, on trouve dans le sang des facteurs qui ne servent pas en dehors de leur fonction d'assurer la coagulation en tube. Ce n'est que quelques années plus tard qu'un autre rôle a été attribué au facteur XII dans la dissolution du caillot. Ce rôle sera examiné ultérieurement : le système d'activation par le contact joue vraisemblablement un rôle dans la formation des thrombus au niveau des prothèses d'organes (reins, vaisseaux, valves, etc.). L'activation par le contact produit le facteur XI_a, enzyme activatrice du facteur IX. Cette activation est inhibée par des plaquettes sanguines activées, une observation qui met encore une fois en doute l'importance physiologique du système d'activation.

4.4. La phase explosive. La fibrinoformation

Lorsque l'on mesure la génération de thrombine dans le plasma, on observe toujours une phase de latence, pendant laquelle apparaît très peu de thrombine, suivie d'une phase explosive

de formation de thrombine. La génération explosive de thrombine garantit une concentration locale importante de cette enzyme, même dans des conditions de flux assez défavorables. Le plasma qui coagule à l'intérieur des agrégats plaquettaires est une source de thrombine. Les plaquettes qui s'en approchent subissent son influence, ce qui favorise leur agrégation. Dès que le « clou hémostatique » obstrue la brèche, le flux du sang est ralenti, ce qui permet à la thrombine de coaguler le plasma stagnant dans et autour de la plaie.

4.5. La transformation du fibrinogène en caillot de fibrine (fig. IB. 2B)

La coagulation est liée à la transformation par la thrombine d'une protéine plasmatique soluble, le fibrinogène, en caillot de fibrine, véritable masse englobant les globules rouges, les globules blancs et les plaquettes sanguines.

La thrombine, tels des ciseaux catalytiques, induit une coupure protéolytique très limitée et

très spécifique au niveau du fibrinogène. C'est ainsi que deux fibrinopeptides A et deux fibrinopeptides B, qui ne représentent que 2 % de l'ensemble de la molécule de fibrinogène, sont détachés. Le fibrinogène dépourvu de fibrinopeptides constitue l'unité de base du caillot de fibrine et porte donc le nom de monomère de fibrine. L'élimination des fibrinopeptides permet de révéler des domaines (qui étaient masqués dans le fibrinogène initial) dont la structure est complémentaire d'autres domaines localisés à une autre extrémité des monomères de fibrine. Du fait de cette complémentarité de structure, les monomères de fibrine vont s'associer entre eux comme les éléments d'un puzzle (voir fig. 2b). Toutefois, les liaisons qui associent ces différents sites complémentaires entre monomères voisins sont facilement dissociables et la stabilisation de l'architecture n'est assurée que par des liaisons chimiques très stables (liaisons de covalence). Elles sont formées grâce à la participation d'une enzyme qui, contrairement aux enzymes précédentes, n'induit pas de clivage de la molécule mais permet au contraire d'unir

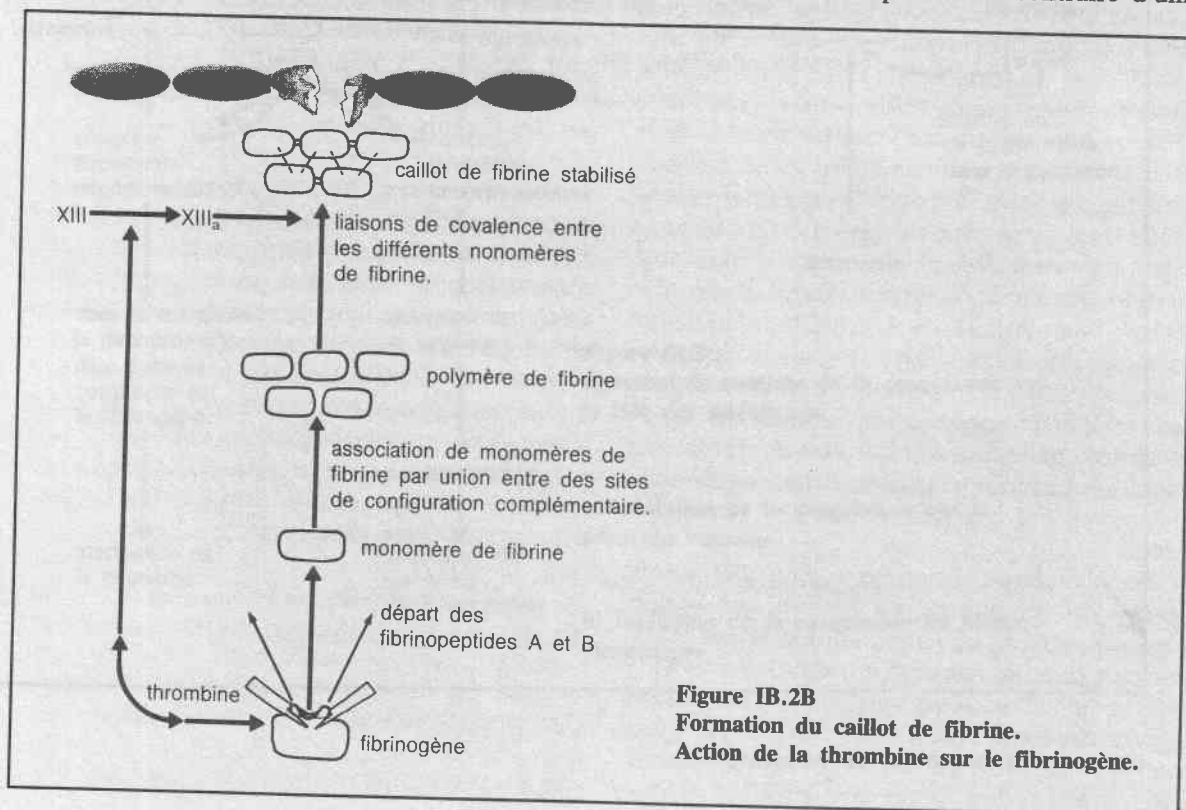


Figure IB.2B
Formation du caillot de fibrine.
Action de la thrombine sur le fibrinogène.

deux molécules entre elles. Le nom de cette enzyme traduit sa fonction : c'est le facteur de stabilisation de la fibrine. Il porte le numéro XIII selon la nomenclature internationale. Cette enzyme existe dans le sang sous forme inactive. C'est encore la thrombine qui l'active et qui, ainsi, est aussi responsable de la stabilisation du caillot.

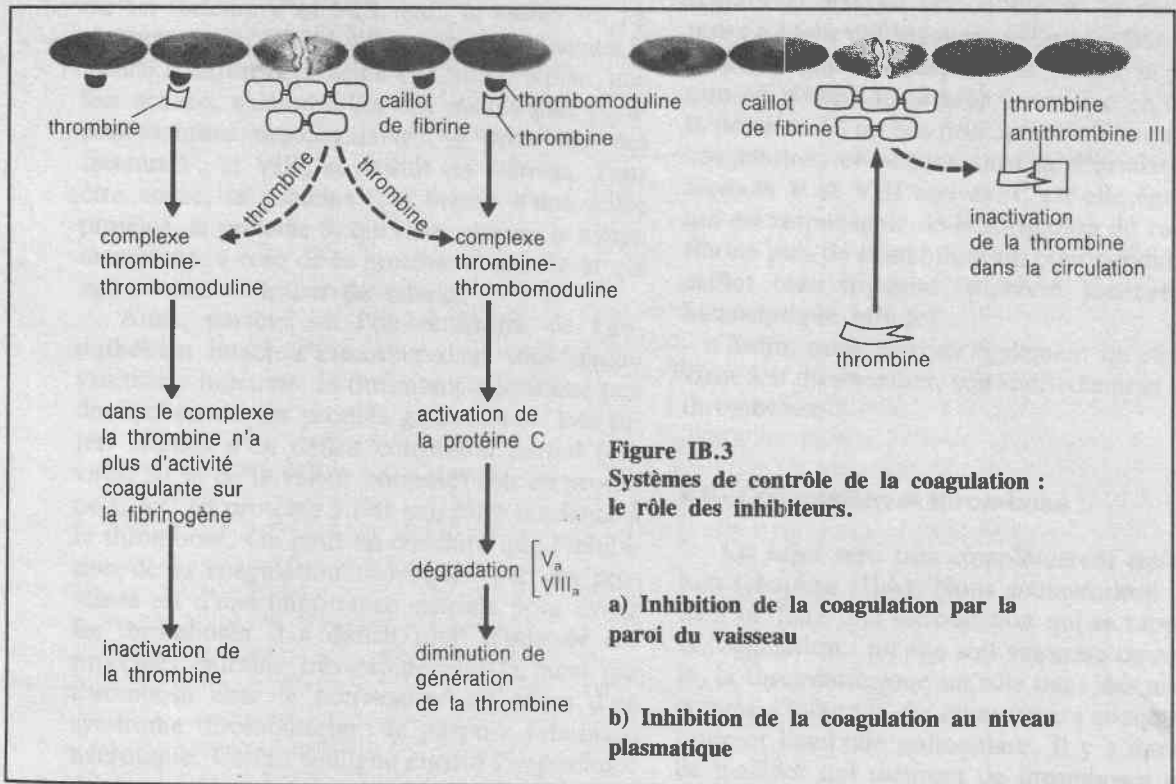
Cette stabilisation est essentielle pour que le caillot exerce ses fonctions hémostatiques. En effet, des syndromes hémorragiques très sévères, apparaissant dès la naissance, sont observés chez les sujets présentant un déficit congénital majeur en facteur XIII.

4.6. La phase inhibitrice (fig. IB. 3)

On comprendra que l'étendue du caillot doit être limitée aux alentours directs de la plaie, sinon le flux dans les vaisseaux limitrophes sera ralenti et une thrombose en résultera. On comprendra aussi que la marge entre hémostase efficace et thrombose pathologique est extrême-

ment faible. En effet, chez les personnes âgées, davantage prédisposées aux thromboses, pour des raisons d'ailleurs inconnues, une blessure anodine peut aisément engendrer une thrombose (en général sans grand danger). De toute façon, un mécanisme qui se rétroactive tel que la thrombinoformation conduirait toujours à une activité infinie, s'il n'y avait pas un autre mécanisme qui en limitait l'extension. L'importance de ce mécanisme peut donc difficilement être sous-estimée.

Plusieurs raisons peuvent expliquer que la formation de thrombine ne continue pas à l'infini. Le simple épuisement de la prothrombine ne suffit pourtant pas. Dans le sang qui coagule dans un tube, toute la prothrombine présente n'est jamais complètement consommée. *In vivo*, à une certaine distance du siège de la plaie, le sang ne coagule pas du tout et continue à circuler avec la totalité de ses facteurs. On peut imaginer qu'il existe une inhibition des enzymes responsables de l'activation de la prothrombine. Après la coagulation, on retrouve dans le sérum des quantités résiduelles des facteurs VII, IX, X



voire même de II alors que le fibrinogène et les facteurs V et VIII ont disparu en totalité. Ces deux derniers facteurs, autrefois dénommés facteurs labiles, disparaissent au cours de la coagulation. On se rappelle que tous les deux doivent être activés par la thrombine. Pour le facteur VIII, toute activation est invariablement suivie d'une inactivation spontanée, dans des systèmes purifiés comme dans le plasma total.

In vitro, la génération de thrombine se termine probablement en raison de l'épuisement des facteurs V_a et $VIII_a$. *In vivo*, ou, plus exactement, en présence de l'endothélium, la nature dispose d'un mécanisme raffiné pour freiner la génération de thrombine dans les vaisseaux intacts. Sur la paroi de tout vaisseau se trouve l'endothélium, monocouche cellulaire qui forme une barrière entre le sang et les autres tissus de l'organisme. Une des protéines extérieures de la membrane de ces cellules est la *thrombomoduline*. Cette protéine a une grande affinité pour la thrombine. Bien qu'ayant des fonctions enzymatiques, ce complexe thrombomoduline-thrombine n'agit plus sur le fibrinogène, ni sur les facteurs V et VIII, etc., ni même sur les plaquettes (fig. IB.3b). Par contre, il a acquis la faculté d'activer la protéine C. Cette protéine, une fois activée, s'adsorbe sur des membranes phospholipidiques procoagulantes, à proximité des facteurs V_a et $VIII_a$ et détruit ces facteurs. Pour être active, la protéine C a besoin d'une autre protéine, la protéine S, qui s'adsorbe sur la même membrane, à côté de la protéine C activée et qui agit comme cofacteur de celle-ci.

Ainsi, partout où l'on rencontre de l'endothélium intact, c'est-à-dire dans tout réseau vasculaire indemne, la thrombine déclenche une destruction de ses propres générateurs. Les sujets atteints d'un déficit congénital partiel (environ 50 % de la valeur normale) soit en protéine C soit en protéine S ont une forte tendance à la thrombose. On peut en conclure que l'inhibition de la coagulation provoquée par ces protéines est d'une importance cruciale pour éviter les thromboses. Un déficit total d'une de ces protéines entraîne très rapidement la mort par thrombose chez le nouveau-né au cours d'un syndrome thrombotique : le purpura fulminans nécrotique. Ce fait souligne encore l'importance de ces protéines.

Dans le plasma se trouvent également des protéines qui inactivent directement les protéases de la coagulation telles que la thrombine, les facteurs X_a , IX_a , etc. Les plus importantes pour la coagulation sont l'antithrombine III et l' α_2 macroglobuline. Toutes les deux forment des complexes inactifs en se liant à une molécule de thrombine. Le déficit congénital partiel (environ 50 % de la valeur normale) d'antithrombine III provoque une maladie thrombotique grave. Là encore, on ne connaît pas de déficit total. L'antithrombine III devient encore beaucoup plus active en présence d'héparine. Ainsi est-elle le levier de la thérapeutique antithrombotique par les héparines.

4.7. Epilogue

La thrombine joue un rôle de véritable chef d'orchestre. C'est elle-même qui commande sa propre formation, puisque ce sont les traces de thrombine qui amplifient considérablement le système de la coagulation en activant les facteurs V et VIII et en mobilisant les phospholipides à partir des plaquettes. Cette même thrombine est également capable de limiter sa production au niveau du secteur vasculaire en activant la protéine C, un des principaux inhibiteurs de la coagulation, et permet ainsi la dégradation des facteurs V et VIII activés. C'est elle également qui est responsable de la formation du caillot de fibrine puis de sa stabilisation pour conduire à un caillot bien organisé, pouvant jouer un rôle hémostatique efficace.

Enfin, nous verrons également qu'elle intervient soit directement, soit indirectement dans la thromolyse.

4.8. Coagulation et thrombose

Ce sujet sera très complètement traité plus loin (chapitre IIIA). Nous souhaiterions cependant en faire une introduction qui se rapporte à la coagulation : qu'elle soit veineuse ou artérielle, la thrombose joue un rôle dans des maladies comme l'infarctus du myocarde, l'attaque cérébrale et l'embolie pulmonaire. Il y a davantage de malades qui meurent de thromboses que de cancers et d'accidents réunis. Il existe deux

thérapeutiques antithrombotiques possibles dont l'efficacité a été démontrée : l'anticoagulation orale et l'héparinothérapie. De celà, on peut conclure que la formation de thrombine est une étape cruciale dans la genèse de toute thrombose. Cependant en plus, certains inhibiteurs des fonctions plaquettaires se sont avérés utiles dans certains cas. Etant donné le rôle important des plaquettes dans la formation de la thrombine, on peut toujours suggérer que la thérapeutique antiplaquettaire peut participer à une inhibition de la thrombinoformation. Il est évident que la formation de thrombine est un phénomène de toute première importance pour la pathologie humaine et que le fait de pouvoir la maîtriser de façon pharmacologique est un outil important de la médecine.

4.9. Les héparines

Comme il a été expliqué précédemment, les héparines agissent par augmentation de l'activité de l'antithrombine III. Le temps de survie d'une molécule de thrombine dans du plasma contenant de l'héparine est aisément raccourci de deux ou trois fois par l'héparine. Ce n'est pourtant pas leur seul rôle. Elles agissent aussi directement sur la thrombine en inhibant ses fonctions activatrices à l'égard des facteurs V et VIII et des plaquettes.

L'héparine n'est pas une substance chimique homogène. Elle se compose de centaines de molécules différentes, qui sont toutes des polymères d'amino-saccharides sulfonés et acétylés. On a fractionné les héparines selon différents critères chimiques et fonctionnels. On a pu démontrer que les héparines de haute affinité pour l'antithrombine III ont une efficacité thérapeutique beaucoup plus importante que celles des autres héparines. Le complexe formé d'une molécule d'antithrombine III avec une molécule d'héparine de bas poids moléculaire a peu d'activité envers la thrombine mais garde une activité envers le facteur X activé. Les héparines de bas poids moléculaire se sont avérées être des médicaments d'une meilleure efficacité que l'héparine non fractionnée sans que l'on en connaisse la raison. L'explication aurait été que l'inhibition du facteur X_a est la fonction antithrombotique

prépondérante. Des recherches modernes mettent cette explication en doute sans, toutefois pour le moment, pouvoir fournir une explication de remplacement. Les héparines n'agissent pas seulement sur la formation et l'inactivation de la thrombine. Dans l'organisme, elles ont beaucoup d'autres actions et il reste à découvrir si ces actions contribuent à l'action antithrombotique.

4.10. L'anticoagulation orale

L'anticoagulation orale ne peut pas être comprise sans connaître la synthèse des facteurs de coagulation. Le foie en est responsable. Les cellules du foie produisent la grande majorité de toutes les protéines du plasma et parmi elles, à l'exception du facteur VIII, tous les facteurs de coagulation. Nous avons déjà vu qu'il est important que ces facteurs s'adsorbent à des phospholipides. Les facteurs II, VII, IX et X et aussi les protéines S et C, disposent d'un groupement spécial qui les rend capables d'une telle adsorption.

Ces protéines, comme toutes les autres, sont synthétisées par le système ADN-ARN dépendant, que l'on retrouve dans toute cellule nucléaire, mais ces facteurs ne sont synthétisés qu'au niveau de la cellule noble du foie, l'hépatocyte. Parce qu'il s'agit, dans le cas des facteurs de la coagulation, de protéines qui exercent leurs fonctions à l'extérieur de cette cellule, elles doivent être sécrétées par ces cellules. Après leurs synthèses, mais avant qu'elles ne traversent la membrane cellulaire, de telles protéines subissent parfois des modifications. Pour les facteurs de coagulation II, VII, IX et X et les inhibiteurs C et S, une telle modification est absolument nécessaire. Il s'agit d'une carboxylation, c'est-à-dire l'attachement d'un groupement acide supplémentaire au niveau de certains résidus d'acide glutamique de ces protéines. Environ 10 à 12 de ces substitutions ont lieu par molécule de protéine, ce qui ne représente qu'une petite fraction de tous les résidus présents dans la molécule. Ces 10 à 12 résidus carboxylés se retrouvent tous regroupés sur une partie de la molécule. Cette partie acquiert ainsi une charge négative très marquée. Par cette charge, elle attire les ions Ca^{2+} et, par l'intermédiaire de ces

ions, elle peut se fixer à une surface phospholipidique négativement chargée. C'est pourquoi les phospholipides de charge négative sont procoagulants. C'est cette union aux phospholipides qui permet la formation des complexes enzymatiques très utiles dans le processus de la coagulation (figure IB.2b).

La carboxylation des résidus d'acide glutamique s'accomplit par l'action d'une série d'enzymes intracellulaires qui requiert l'apport de la vitamine K.

Il existe des médicaments, les antivitamines K, qui ressemblent à cette vitamine sans pouvoir exercer sa fonction mais qui pourtant se lient à des enzymes dépendantes de la vitamine K. Ces médicaments peuvent être comparés à des clefs qui fonctionneraient partiellement, en entrant dans la serrure, sans toutefois pouvoir ouvrir ni fermer la porte.

Ces médicaments bloquent donc l'action de la vitamine K et induisent ainsi un état d'hypovitaminose K artificielle. Les facteurs de coagulation ne sont ainsi pas carboxylés et sortent de la cellule hépatique sous une forme inadaptée à la coagulation puisqu'ils ne peuvent plus s'associer aux phospholipides, ce qui entraîne une baisse de l'activité biologique de ces facteurs et donc une réduction de la thrombinoformation. Bien que l'activité des deux facteurs inhibiteurs (les protéines S et C) soit également abaissée, la baisse d'activité des facteurs de coagulation l'emporte si l'anticoagulation est suffisamment forte. Une anticoagulation « prudente », qui ne diminue pas assez les facteurs procoagulants, peut même conduire à la thrombose, à cause de son influence sur les protéines S et C, chez les sujets atteints d'un déficit congénital en protéine C ou en protéine S.

Une bonne anticoagulation orale n'est pas difficile à obtenir mais exige la solution de quelques problèmes logistiques et autres qui, dans la plupart des pays, est difficile à obtenir loin des grands centres spécialisés. Les traitements par les antivitamines K nécessitent une surveillance biologique attentive, la posologie étant adaptée pour chaque maladie en fonction des résultats d'examen de laboratoire. Cette surveillance est indispensable car les sensibilités à ces drogues varient considérablement d'un malade à un autre. De plus, les contrôles doivent

être répétés car chez un même malade, des variations de l'efficacité de la drogue sont parfois observées en raison des modifications de l'état général du malade, de son alimentation ou de certaines thérapeutiques associées. En France, où l'utilisation de ces anticoagulants est très répandue, un effort très particulier de standardisation de la surveillance biologique est en train d'être fourni afin que les résultats soient les plus fiables possibles. Aux Pays-Bas et dans certaines régions d'Angleterre et de Scandinavie, il existe une organisation qui, en cas de nécessité, peut appliquer une bonne anticoagulation à toute personne. Ces « services de thromboses » s'avèrent très utiles pour le combat contre les maladies thrombotiques.

4.11. Coagulation et maladies

L'importance de la thrombose pour la pathologie est difficile à estimer. L'athérosclérose (chapitre IIIB), qui est à l'origine de la plupart des thromboses léthales, est elle-même causée par un processus de microthrombose à l'intérieur des artères.

Ainsi la thrombose est-elle responsable des causes précoces et des complications finales de l'infarctus du myocarde, de l'attaque cérébrale, de nécroses intestinales, de l'infarctus rénal, des troubles de circulation des membres, etc. Le danger ne vient pourtant pas seulement des thromboses artérielles. Les thromboses veineuses peuvent par exemple entraîner une mort subite par embolie pulmonaire après intervention chirurgicale, causer l'ulcère des jambes, etc. La coagulation joue encore un rôle dans d'autres maladies, que l'on peut enrayer par l'inhibition de la coagulation.

La coagulation intravasculaire disséminée est un phénomène à l'origine de nombreuses complications lors de maladies infectieuses, gynécologiques et autres.

En résumé, la coagulation sanguine, tout comme l'immunologie, est un des systèmes de défense généralisée de l'organisme. Hélas, l'état actuel de nos connaissances ne nous permet pas encore d'en posséder tous les rouages.

5. La destruction du caillot de fibrine : la fibrinolyse

Après un traumatisme, la brèche vasculaire est réparée en un temps variable (six à dix jours). La circulation sanguine va alors reprendre normalement grâce à la désobstruction du vaisseau due à la lyse du caillot de fibrine ou *fibrinolyse*. Cette destruction du caillot est assurée par la plasmine, l'enzyme qui dégrade la fibrine insoluble en fragments de tailles variables selon la durée et l'intensité de l'attaque. Ces produits de dégradation de la fibrine sont solubles. Ils vont ainsi se détacher du caillot, lequel va littéralement fondre. La plasmine ne se formera qu'en cas de nécessité selon un processus très précisément contrôlé. Si elle est formée en quantité trop importante, la destruction des caillots se fait avant même que la plaie ne soit cicatrisée et une hémorragie s'installe. Si, au contraire, la quantité de plasmine est insuffisante, les vaisseaux risquent de rester obstrués après la moindre lésion et la thrombose peut s'installer.

La plasmine, comme la thrombine, provient d'un précurseur ou proenzyme, le plasminogène. Son activation nécessite l'intervention d'enzymes appelées activateurs.

Alors que pour la coagulation, on connaît aujourd'hui l'ordre d'intervention des différents facteurs qui mènent à la génération de thrombine, les connaissances sur l'activation du plasminogène restent beaucoup plus floues.

Le mécanisme de cette activation est tout au moins aussi subtil que celui de la génération de la thrombine. Comme cette dernière, la génération de la plasmine reste strictement localisée à la région de la plaie où le caillot se trouve. La nature a donc encore prévu un merveilleux système de contrôle permettant d'éviter la dégradation du fibrinogène circulant. En fait, deux systèmes de contrôle sont mis en jeu dans ce but :

- d'une part, la fibrine amplifie l'action des activateurs du plasminogène et la génération de plasmine se fait donc essentiellement au sein du caillot de fibrine. La fibrine ne se comporte donc pas comme une cible passive destinée à être détruite puisqu'elle favorise sa propre destruction ;

- d'autre part, toute plasmine qui s'échapperait dans le sang circulant serait immédiatement neutralisée par un inhibiteur qui agit en un temps record, ne laissant donc pas le temps à la plasmine de dégrader les protéines plasmatiques sensibles à son action comme le fibrinogène ou les facteurs V et VIII.

5.1. La phase initiale

La première phase de la fibrinolyse correspond à la mobilisation des différents activateurs du plasminogène. Lors de l'apparition d'un caillot de fibrine, l'organisme réagit immédiatement en mobilisant les activateurs de plasminogène qui étaient en réserve.

5.1.1. L'ACTIVATEUR TISSULAIRE DU PLASMINOGÈNE

A. Structure

L'activateur tissulaire du plasminogène est mis en réserve dans les cellules endothéliales de nombreux tissus et va être mobilisé dans la circulation en cas de besoin. Il est surtout connu sous le nom de tPA (*tissue plasminogen activator*).

Sa structure est bien élucidée et on peut localiser quatre domaines qui jouent un rôle déterminant dans son activité :

- deux domaines sont impliqués dans l'union du tPA à la fibrine. Ces régions jouent un rôle essentiel car elles permettent de retenir le tPA au niveau de la cible à détruire par la plasmine ;
- un domaine comporte le centre actif enzymatique, dont la structure est semblable à celle des autres sérines estérases. Contrairement aux facteurs de la coagulation, le tPA a son centre actif immédiatement accessible. Il n'a donc pas besoin d'être activé par protéolyse. Le tPA est pourtant rendu plus actif par son adsorption à la fibrine, comme les facteurs de coagulation le sont par leur union avec les phospholipides ;
- le quatrième domaine présente une analogie avec le facteur de croissance des cellules épidermiques ou EGF. On ne connaît pas actuellement son rôle, mais on peut toutefois imaginer que cette région participe à l'action du tPA dans la croissance tumorale (voir chapitre IIC).

B. La mobilisation du tPA

Le tPA est formé et stocké dans la cellule endothéliale. Il ne sera libéré en quantité importante qu'en cas de nécessité. Il importe donc de connaître les ordres de mobilisation de cette enzyme. Il est important de noter que les produits formés au cours de l'activation de la coagulation ou lors de la formation du thrombus sont capables d'agir sur la cellule endothéliale pour induire la libération de molécules de tPA. On sait en outre que la libération de tPA est déclenchée par la stase veineuse qui se constitue en amont des thromboses du fait du blocage de la circulation, mais on ne sait pas si cette libération est liée à un mécanisme neuroréflexe, métabolique ou autre. De même, l'anoxie et l'acidose, qui peuvent être secondaires à une occlusion vasculaire, induisent une libération de tPA. Enfin, il a été montré plus récemment que la thrombine elle-même pouvait agir directement sur les cellules endothéliales pour induire la libération du tPA.

Il faut toutefois signaler que d'autres conditions physiopathologiques, comme le stress ou l'exercice physique, peuvent également induire la libération de tPA à partir des cellules endothéliales.

C. La fixation du tPA à la fibrine

Du fait de sa grande affinité pour la fibrine, le tPA libéré se fixe au niveau du caillot qu'il doit détruire. Toutefois, toutes les molécules de tPA qui sont libérées des cellules endothéliales ne vont pas être toutes disponibles pour la thrombolyse, car, avant même d'atteindre le caillot de fibrine, certaines vont être captées et inhibées par un inhibiteur plasmatique spécifique de cette enzyme. Une fois le tPA adsorbé sur le caillot, il est protégé, tout au moins en grande partie de l'action de cet inhibiteur. Cet inhibiteur intervient donc en premier pour éviter une action généralisée du tPA dans le plasma.

D. Inhibiteurs du tPA

Deux types différents d'inhibiteurs ont été décrits. Le premier est sécrété par les cellules endothéliales, par les fibroblastes et même par les plaquettes. Celles-ci pourraient libérer leur

inhibiteur lorsqu'elles sont soumises à l'action de la thrombine. Le deuxième inhibiteur du tPA est sécrété par le placenta. Il est présent en haute concentration dans le sang des femmes enceintes et peut être responsable des hypofibrinolyse. Sa structure est différente du précédent.

L'inhibiteur du tPA joue un rôle physiologique extrêmement important, car, à l'état basal, il permet la neutralisation de tout le tPA circulant et empêche donc la formation de plasmine dans la circulation. Au contraire, dès qu'un caillot se forme, les conditions sont telles que la quantité de tPA libérée par les cellules endothéliales est considérablement accrue. Dans ces conditions, la concentration en inhibiteur est insuffisante pour neutraliser tout le tPA. Le tPA qui reste libre peut donc se fixer à la fibrine et permettra une génération localisée de plasmine. On assiste ainsi à une régulation parfaitement adaptée aux nécessités de la lyse du caillot de fibrine et à la protection du fibrinogène circulant d'une dégradation par la plasmine.

5.1.2. L'UROKINASE

Le deuxième activateur dont l'action fibrinolytique semble prépondérante est l'urokinase. Contrairement au tPA, cet activateur est sécrété sous forme d'un zymogène inactif, la pro-urokinase. L'urokinase est connue depuis 1885. En effet, à cette époque, Von Brucke a montré que l'urine humaine était capable de dissoudre le caillot de fibrine. L'urokinase humaine, sécrétée localement par les cellules rénales, ne passe pas dans la circulation. Son action ne peut donc être que locale.

Ce n'est que beaucoup plus récemment que différents groupes ont également mis en évidence la présence d'une pro-urokinase circulante (fig. IB.4). Toutefois, contrairement au tPA, l'urokinase ne possède pas de structure permettant sa liaison à la fibrine et, de ce fait, son rôle dans la thrombolyse physiologique a été sous-estimé. La réhabilitation de cet activateur n'a eu lieu qu'en 1984, grâce aux travaux de Gurevich. Cet auteur a montré que, bien que l'urokinase ne se lie pas à la fibrine, la pro-urokinase était capable d'induire la lyse d'un caillot de fibrine sans dégrader le fibrinogène circulant. Pour

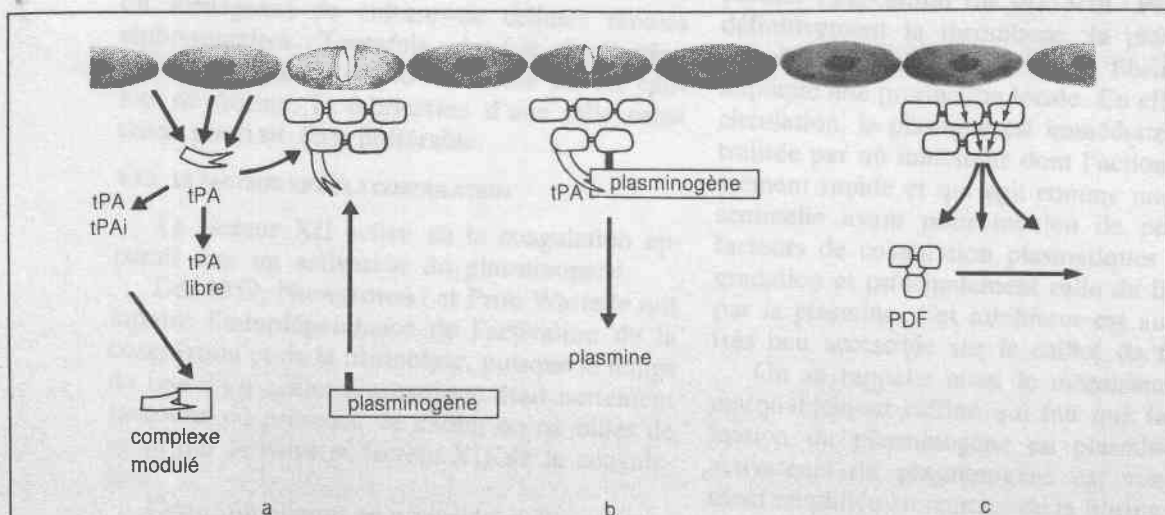


Figure IB.4

La fibrinolyse : dégradation du caillot de fibrine par la plasmine.

a) Formation de la plasmine

Libération du tPA. La fraction non inhibée par l'inhibiteur (tPA i) se fixe sur le caillot de fibrine. Localement, le plasminogène est activé par le tPA ----> plasmine.

b) Formation de la plasmine par le plasminogène activé par le tPA non inhibé.

c) Dégradation du caillot par la plasmine

La plasmine dégrade la fibrine en des endroits précis. Il s'ensuit le détachement de petits fragments solubles de PDF (produit de dégradation de la fibrine) qui sont entraînés dans la circulation.

expliquer comment une substance qui n'a pas d'affinité pour la fibrine est capable d'assurer sélectivement une destruction du caillot de fibrine en épargnant le fibrinogène, deux hypothèses sont présentement avancées :

– pour les auteurs belges (Lijnen et al.), la pro-urokinase exerce un effet minime dans l'activation du plasminogène en plasmine (environ 1/100^e de l'effet exercé par l'urokinase). Celle-ci est formée en quantité insuffisante pour détruire le caillot de fibrine. Toutefois, ces faibles quantités de plasmine sont capables de transformer la pro-urokinase en urokinase active permettant à son tour une activation rapide du plasminogène en plasmine. Ainsi pour la fibrinolyse, il existe une boucle d'activation semblable à celle qui avait été observée pour l'activation du facteur X et du facteur VII dans la phase initiale de la coagulation. Cette activation de la pro-urokinase en urokinase ne s'effectue qu'au niveau du

caillot de fibrine car, dans le plasma, un inhibiteur empêche l'activation du plasminogène par la pro-urokinase et le système est donc bloqué ;
– pour Gurevich, le plasminogène, lorsqu'il est adsorbé sur le caillot, change de conformation du fait de l'union avec la fibrine et ce n'est que sous cette forme modifiée qu'elle est capable d'être activée par la pro-urokinase. Dès lors, le processus s'emballe, puisque la faible quantité de plasmine formée est à son tour capable d'activer localement la pro-urokinase en urokinase.

De plus, si de l'urokinase (UK) se retrouve en cas exceptionnel dans le plasma, l'inhibiteur du tPA exerce son effet inhibiteur également sur l'UK tandis qu'il reste sans effet sur la pro-urokinase.

L'urokinase a été largement utilisée en clinique pour dissoudre les thrombi fibrineux, particulièrement dans les cas d'embolies pulmo-

naires. Elle a été extraite de l'urine humaine ou du surnageant de culture de cellules rénales embryonnaires. Toutefois, du fait de l'action plus spécifique de la pro-urokinase sur les caillots de fibrine, la fabrication d'une telle substance pourrait être préférable.

5.1.3. LE FACTEUR XII DE LA COAGULATION

Le facteur XII activé de la coagulation apparaît être un activateur du plasminogène.

Dès 1959, Niewarowski et Prou Wartelle ont montré l'interdépendance de l'activation de la coagulation et de la fibrinolyse, puisque le temps de lyse d'un caillot plasmatique était nettement raccourci en présence de kaolin ou de billes de verre qui activent le facteur XII de la coagulation.

Cette stimulation ne pouvait pas être trouvée chez des sujets présentant un déficit congénital majeur en facteur XII. Le rôle du facteur XII_a dans la fibrinolyse était dès lors démontré. Toutefois, en milieu purifié, le facteur XII_a étant inefficace sur la fibrinolyse, on peut donc supposer que le facteur XII_a agit par l'intermédiaire d'un autre facteur. Pour Bachmann, ce facteur pourrait-être la prékallikréine.

5.2. La phase d'activation du plasminogène

Le plasminogène est formé dans l'hépatocyte, la cellule noble du foie. Il est libéré dans le sang où sa demi-vie est de 2,2 jours. Sa concentration dans le plasma est de 200 mg/l, soit 2 μ M. C'est une protéine monocaténaire, dont la structure ondulée forme cinq boucles successives. Seul un site localisé au niveau de la première boucle a une affinité forte pour la fibrine. L'accessibilité de ce site est partiellement masquée par le peptide localisé à l'extrémité N-terminale du plasminogène.

Les activateurs du plasminogène vont permettre au plasminogène de devenir actif en démasquant son site actif. Les activateurs du plasminogène hydrolysent un seul pont peptidique du plasminogène, entre l'arginine 560 et la valine 561. La molécule de plasminogène qui était monocaténaire devient ainsi bicaténaire mais les deux chaînes de peptides restent réunies entre elles par un pont disulfure. Le changement de la configuration de la molécule qui en résulte

permet l'exposition du site actif. Pour vaincre définitivement la thrombose, la plasmine doit être localisée au niveau de la fibrine, ce qui implique une production locale. En effet, dans la circulation, la plasmine est immédiatement neutralisée par un inhibiteur dont l'action est extrêmement rapide et qui agit comme une véritable sentinelle ayant pour mission de protéger les facteurs de coagulation plasmatiques d'une dégradation et principalement celle du fibrinogène par la plasmine. Cet inhibiteur est au contraire très peu accessible sur le caillot de fibrine.

On se rappelle aussi le mécanisme très remarquablement raffiné qui fait que la transformation du plasminogène en plasmine par les activateurs du plasminogène est considérablement amplifiée au contact de la fibrine. Une fois encore, le caillot de fibrine n'est donc pas une cible passive, puisqu'il favorise sa propre destruction. Ainsi, l'action « kamikase » de la fibrine peut s'expliquer de différentes façons. Une partie de tPA sécrétée localement par l'endothélium va se fixer sur la fibrine avant même que l'anti-activateur ne puisse l'inactiver. Une fois que le tPA est attaché à la fibrine, l'efficacité du tPA est considérablement accrue. Deux mécanismes sont proposés pour expliquer cela. Tout d'abord, il s'avère qu'en présence de tPA, la fixation de plasminogène à la fibrine est nettement accrue ce qui est indispensable pour la thrombolyse. En effet, en l'absence de tPA, seulement 10 % du plasminogène circulant se fixe à la fibrine. Simultanément, l'alpha-2-antiplasmine se lie au caillot en quantité suffisante pour inhiber la plasmine générée localement grâce à la transformation du plasminogène lié à la fibrine. La lyse du caillot ne peut donc avoir lieu que si le caillot adsorbe une quantité supplémentaire de plasminogène, ce qui est le cas en présence de tPA.

En outre, l'activation du plasminogène en plasmine par le tPA est nettement accélérée en présence de fibrine. Cet effet de potentialisateur de la fibrine activation est lié au fait que, lorsque le tPA se lie à la fibrine, son affinité pour le plasminogène augmente considérablement.

5.3. La phase finale : la destruction du caillot de fibrine (fig. IB. 4)

La plasmine formée localement au niveau du caillot de fibrine va dégrader ce dernier en fragments solubles qui se détachent du caillot et passent dans la circulation. La plasmine exerce son action protéolytique en des points stratégiques bien définis au niveau de chaque sous-unité de monomère de fibrine constituant le caillot. La dégradation commence en effet à des endroits vulnérables, très accessibles à la surface de chaque monomère. Puis, plus tard, elle se produit sur des sites plus internes. Par contre, les liaisons qui unissent les monomères entre eux au niveau de la fibrine sont résistants à l'action de la plasmine. Ainsi, lors de la dégradation, les fragments de fibrine qui passent dans la circulation sont formés de l'association de petits fragments issus de monomères de fibrine contigus. Les premiers fragments libérés (« fragments précoces ») sont assez gros. Puis, lorsque la dégradation avance, les fragments deviennent plus petits : ce sont les produits tardifs de dégradation de la fibrine. Le dosage de ces différents fragments de fibrine dans le sang circulant sert d'ailleurs à mettre en évidence la présence de caillot de fibrine dans l'organisme. Cette constatation est mise à profit tous les jours dans nos laboratoires : le dosage des produits de dégradation de la fibrine est utile pour le diagnostic des thromboses veineuses.

Les techniques de dosage habituellement mises en œuvre sont peu sensibles car la dégradation d'un caillot unique n'induit qu'une libération faible de produits de dégradation de la fibrine, qui ne peuvent pas être dépistés par les techniques classiques. C'est pour cette raison que nous nous attachons à mettre en œuvre des techniques beaucoup plus fines qui nous ont déjà donné des résultats prometteurs grâce à l'utilisation d'anticorps monoclonaux.

Une activation systématique pathologique de la coagulation, conduisant au dépôt de fibrine dans les capillaires de l'organisme (coagulation intravasculaire généralisée), est par contre facilement dépistée par les techniques classiques de dosage des produits de dégradation de la fibrine. Cette activation de la coagulation entraîne paradoxalement un syndrome hémorragique à cause

de la consommation de plusieurs facteurs nécessaires à la coagulation (voir chapitres IIA et IIIA).

6. Dérèglement du système

Comme toute machinerie complexe, le système de la fibrinolyse peut se dérégler. La connaissance approfondie des grands systèmes de régulation de la fibrinolyse a permis de mieux comprendre les désordres.

6.1. Si la machinerie s'emballe

La fibrinolyse ne pourra plus être contrôlée et les caillots d'hémostase se dissoudront avant même la réparation tissulaire. Il s'ensuit l'apparition d'un syndrome hémorragique. L'histoire des accidents hémorragiques liés à une exagération du système fibrinolytique (l'hyperfibrinolyse) a débuté par un coup d'éclat, il y a une trentaine d'années. Certains malades, à la suite d'accidents, de chocs ou encore de septicémies par exemple, mourraient d'hémorragie. Le sang s'écoulait « en nappe ». On a cherché la raison de ces catastrophes et on les avait attribuées à un syndrome d'hyperfibrinolyse. Des traitements visant à combattre cette hyperfibrinolyse ont été institués : les médecins furent déçus, car une aggravation du syndrome hémorragique était souvent notée chez les malades traités.

Dès lors, comme cela arrive parfois en recherche biologique, on est passé à une théorie tout à fait opposée.

Il a été en effet prouvé que la fibrinolyse n'intervient que secondairement à un processus de coagulation intra-vasculaire disséminée (CIVD) et aurait le rôle bénéfique de débarrasser l'organisme des dépôts fibrineux au niveau des organes. Le syndrome hémorragique qui en suit peut être très variable mais peut aller jusqu'à mettre en jeu la vie d'un malade, particulièrement en milieu obstétrical. Il est lié, comme il sera analysé au chapitre IIIA à la consommation de plusieurs facteurs de la coagulation et à celle des plaquettes.

Entre 1960 et 1980, plusieurs écoles de médecine, à la suite des erreurs commises avant 1960

n'hésitaient pas alors à affirmer que les syndromes d'hyperfibrinolyse n'existaient pas et ne se préoccupaient que des syndromes de CIVD. En faveur de cette théorie, on évoquait le fait que le système d'antiplasmine était très important et devait donc prévenir tout risque lié à la formation intempestive de l'enzyme fibrinolytique : la plasmine.

Vingt années d'effort et de travaux concernant la fibrinolyse ont permis aux médecins et aux biologistes de montrer que le syndrome d'hyperfibrinolyse, bien que rare, existait réellement et pouvait être responsable d'un syndrome hémorragique.

L'exagération du système fibrinolytique ne peut être dépistée que par des examens biologiques spécialisés. Aucun examen classique ne permettait de prévoir cet accident car, la plasmine circulante étant immédiatement neutralisée, les facteurs de coagulation du sang circulant ne sont pas dégradés et leur concentration reste donc normale.

Contrairement à ce que l'on observe dans les cas de CIVD avec fibrinolyse secondaire, des succès thérapeutiques spectaculaires ont été obtenus chez ces sujets par les médicaments antifibrinolytiques. Certains de ces médicaments sont des inhibiteurs directs de la plasmine. Les autres agissent en détachant le plasminogène du caillot. Dans certains cas, la fibrinolyse reste localisée au niveau d'un organe, ce qui rend le diagnostic biologique difficile puisque l'on ne dispose que du sang périphérique pour réaliser les examens. C'est ce qui se produit par exemple pour certaines ménorragies : l'utérus est un organe très riche en activateur de plasminogène et une hypersécrétion locale peut être responsable d'hémorragies au cours des règles chez la femme. C'est ainsi qu'en l'absence de toute cause organique pouvant induire une hémorragie, tel un fibrome, les traitements antifibrinolytiques peuvent être efficaces. Toutefois, ils doivent être administrés avec prudence à cause du risque thrombotique observé lors de leur administration.

6.2. Si la machine est freinée ou bloquée

Si au contraire, la machine est freinée ou bloquée, l'hypofibrinolyse qui en découle pourrait être incriminée dans le développement des thromboses veineuses ou tout au moins pourrait représenter un « facteur de risque ». Les grandes découvertes sur la physiologie de la fibrinolyse ont d'ailleurs conduit de nombreuses équipes médicales et biologiques à rechercher d'éventuelles relations entre hypofibrinolyse et maladie thrombotique (chapitre IIIA).

Les mécanismes biochimiques responsables de ces hypofibrinolyse doivent être analysés afin que des progrès rationnels concernant le traitement de ces affections puissent être réalisés. Dans quelques rares cas, une diminution du taux de plasminogène ou une anomalie qualitative de cette protéine ont été mises en évidence. Dans cette dernière éventualité, le plasminogène est présent mais il est anormal et incapable de se transformer en plasmine active et donc d'exercer sa fonction biologique.

Dans la grande majorité des cas, l'hypofibrinolyse a été reliée à une déficience du système fibrinolytique dépendant du tPA. Deux causes principales peuvent être responsables de cette hypofibrinolyse : une diminution de sécrétion du tPA ou une augmentation du taux inhibiteur du tPA.

Enfin, on a signalé que certaines thromboses pouvaient s'expliquer par une anomalie de structure du caillot, rendant ce dernier peu dégradable par les enzymes fibrinolytiques.

L'histoire de la famille D. est une suite funeste d'accidents thrombotiques très graves qui illustre bien les relations entre anomalies de la fibrine et hypofibrinolyse. Monsieur D. a eu trois fils, deux sont morts très jeunes d'embolie pulmonaire et le troisième a fait des accidents du même type, mais heureusement l'évolution a été favorable.

On a démontré que ce trouble était lié à une anomalie congénitale de la molécule de fibrinogène. Parallèlement, une étude attentive permettait de mettre en évidence que, bien que la libération du tPA par les cellules endothéliales était normale, la lyse du caillot de fibrine induite par le tPA était très ralentie chez le malade. Dès lors, une étude est faite qui démontre que les

anomalies du fibrinogène conduisent à la formation d'un caillot anormal beaucoup moins accessible aux enzymes de la fibrinolyse qu'un caillot normal. L'enquête établit que toutes les personnes de la famille D. qui ont fait des embolies pulmonaires présentaient une anomalie du fibrinogène. Cette observation aura permis de développer un nouveau concept sur la physiopathologie des thromboses. En outre, tous les médecins savent qu'un caillot ancien se rétracte. Sa structure devient plus compacte qu'un caillot nouvellement formé, ce qui explique l'efficacité très réduite des thérapeutiques thrombolytiques si le traitement est institué tardivement.

7. Espoirs et rêves

Comme l'a dit le Professeur Jean Bernard dans *Grandeur et tentation de la Médecine*, dans le chapitre sur les greffes : « tels sont les faits ; viennent maintenant les espoirs puis les rêves ».

Les espoirs, d'abord. Pour citer encore le Professeur Jean Bernard, « l'homme et la femme de ce dernier tiers du XX^e siècle ne meurent plus que de lésions vasculaire, cardiaque, cérébrale ou rénale, de cancer ou d'accident ». Un des buts essentiels de la médecine moderne est donc de savoir traiter efficacement les thromboses. La thrombose sera-t-elle bientôt vaincue, comme le suggèrent de nombreux généralistes enthousiasmés par les réalisations des trois dernières années ? Des voies tout à fait nouvelles, dégagées par des progrès réalisés sur la fibrinolyse et des recherches en génie génétique, ont été élaborées. En cas de thrombose existante, les traitements anticoagulants, en retardant la coagulation, ne peuvent que s'opposer à l'extension des thromboses. Au contraire, les traitements thrombolytiques ont pour but de détruire le caillot sanguin mais laissent la voie ouverte à des nouvelles thromboses. Les premiers traitements thrombolytiques consistaient à administrer au malade de l'urokinase ou de la streptokinase. Ces deux drogues, toutefois, n'ayant pas d'afinité pour la fibrine, vont transformer directement le plasminogène circulant en plasmine. Dès lors, cette plasmine attaquera aussi bien le fibrinogène que le caillot de fibrine et, de ce fait,

ces drogues pourront facilement induire des hémorragies. Elles ne pouvaient être utilisées que dans des services particulièrement bien entraînés, la surveillance du malade devant être parfaite. Les progrès récents réalisés sur la fibrinolyse ayant fait apparaître l'intérêt du tPA dans la thrombolyse sans fibrinogénolyse circulante, Collen eut l'idée d'utiliser le tPA comme traitement curatif des thromboses. Les premières tentatives réalisées chez l'animal ont été très concluantes et les laboratoires de l'industrie pharmaceutique se sont intéressés à la production industrielle de ce tPA. L'isolement a commencé à être réalisé à partir de cellules de mélanome faciles à cultiver et qui sécrétaient du tPA. Toutefois, cette extraction posait de difficiles problèmes et les quantités extraites étaient de ce fait très limitées. Encouragé par Collen, Pennica a mis au point une production de tPA par génie génétique qui permet de disposer de quantités suffisamment importantes pour que les traitements thrombolytiques puissent être institués.

Actuellement des essais en clinique sont poursuivis dans le traitement de l'infarctus du myocarde. Dans ce cas, une reperméabilisation très rapide des coronaires obstruées est indispensable pour limiter la destruction des cellules myocardiques, consécutive au défaut d'irrigation. Les premiers essais sont extrêmement encourageants sur le plan de l'efficacité et le rêve d'hier est plus qu'un espoir, presque une réalité. Des essais thérapeutiques avec la pro-urokinase vont également être entrepris. Toutefois, comme il n'existe pas de médicament suffisamment intelligent pour discerner entre le caillot utile qui empêche les hémorragies lors d'un traumatisme et le caillot néfaste qui bouche un vaisseau, c'est-à-dire la thrombose, le risque hémorragique induit par ce type de drogue reste important, ce qui peut limiter son utilisation dans de nombreux cas.

La thérapeutique fibrinolytique sauve aussi après accident mais n'a pas de valeur préventive. Elle doit donc être suivie par une anticoagulation efficace. Ainsi arrive-t-on au rêve de demain. Si l'on peut arriver à dissoudre le caillot, le rêve serait d'empêcher complètement sa formation : les médicaments anticoagulants ne touchent pas au vif du mécanisme pathogénique ; l'idéal serait l'éradication des principaux facteurs de risque.

En dehors de son action utile sur le caillot de fibrine, le système fibrinolytique pourrait en outre participer au développement de processus pathologiques. C'est ainsi, par exemple, que différents auteurs ont postulé que la sécrétion par les cellules cancéreuses d'activateur du plasminogène pourrait participer à la dissémination métastatique puisque la plasmine générée induit non seulement la dégradation de la fibrine, mais également celle de la laminine de la paroi vasculaire. En outre, l'activation d'une pro-collagénase par la plasmine a également été rapportée. De ce fait, la dégradation du collagène et de la laminine pourrait faciliter le passage des cellules au travers de la barrière vasculaire et favoriser de ce fait la dissémination

cancéreuse. Cette propriété du système fibrinolytique a été étudiée récemment. Des résultats très intéressants ont été obtenus puisque, chez l'animal, un anti-sérum dirigé contre l'urokinase a limité la dissémination des cellules cancéreuses. De plus, il faut souligner que, dans le tPA, une séquence d'acides-amino a été trouvée, très voisine de celle d'un facteur de croissance pour les cellules.

Enfin, certains peptides libérés du fibrinogène favorisent les réactions inflammatoires. Toutefois, les travaux sont préliminaires. Il semblerait que les fragments de dégradation du fibrinogène, en induisant la séparation des cellules endothéliales, augmenteraient la perméabilité vasculaire et donc l'inflammation.

RÉFÉRENCES

- BACHMANN F., KRUTHOFF EKO (1984). Tissue plasminogen activator: chemical and physiological aspects. *Sem. Thromb. Haemost.* 10 : 6-17.
- BIGGS R., MACFARLANE R.G. (1953). *Human Blood Coagulation and its Disorders*. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- CAEN J., SORIA C., TOBELEM G. (1986). *Fibrinolyse et thrombolyse*. Masson, Paris.
- COLLEN D. (1980). On the regulation and control of fibrinolysis. *Thromb. Haemost.* 43 : 77-89.
- COLLEN D., VERSTRAETE M. (1983). Systemic thrombolytic therapy of acute myocardial infarction. *Circulation*. 68 : 462-465.
- GUREVICH V., PANNELL R. (1984). Effective and fibrin-specific clot lysis by a Zymogen precursor form of urokinase (pro urokinase). A study in vitro in two animal species. *J. Clin. Invest.* 73 : 1731-1739.
- HEMKER H.C., BÉGUIN S. (1986). Possibilités biochimiques et réalités physiologiques de la boucle Josso et autres réactions croisées de la coagulation. Physiopathologie de l'hémostase et de la thrombose, *Prog. en Hémat.*, 8.
- ISACSON S., NILSON I.M. (1972). Defective fibrinolysis in blood and vein walls in recurrent idiopathic venous thrombosis. *Acta. Clin. Scan.* 138 : 313-319.
- JACKSON C.M., NEMERSON Y. (1980). Blood coagulation. *An. Rev. Biochem.* 49 : 765-811.
- LAWN R.M., VEHAAR G.A. (1986). The molecular genetics of hemophilia. *Scient. Am.* 254 : 40-55.
- PENNICA D., HOLMES W.E. et coll. (1983). Cloning and expression of human tissue-plasminogen activator C-DNA in E. Coli. *Nature* 301 : 214-221.
- SORIA J., SORIA C., CAEN J. (1983). A new type of congenital dysfibrinogenemia with defective fibrin lysis : Dusard Syndrome. Possible relation to thrombosis. *Brit. J. Haemat.* 53 : 573-586.
- VERSTRAETE M., VERMYLEN J. *State of the Art in Coagulation*. Leuven University Press, 1987.
- ZWAAL R.F.A., HEMKER H.C. Blood coagulation. In : *New Comprehensive Biochemistry*. Vol. 13. Elsevier, 1987.